УДК: 612.017.11:616.61-002.3:616-053.37

Батаева Е.П., Витковский Ю.А.

ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ, СТРАДАЮЩИХ ОСТРЫМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

Исследования последних лет констатируют постоянное нарастание частоты воспалительных заболеваний органов мочевой системы бактериальной природы. Пиелонефрит (ПН) занимает второе место после заболеваний органов дыхания и является причиной госпитализации 4-5% всех детей, леченных в стационаре [10]. В патогенезе пиелонефритов ведущее звено занимают иммунологические механизмы [7]. К настоящему времени хорошо изучены фагоцитарные реакции, фенотип иммунокомпетентных клеток, содержание иммуноглобулинов, продукция цитокинов и др. [4,5]. Вместе с этим в последние годы предложен целый ряд новых тестов, позволяющих значительно расширить наши представления о функциях основных защитных систем - иммунитета и гемостаза. Один из них получил наименование лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) [2,3]. Этот феномен лежит в основе межклеточных взаимодействий, способности к миграции лейкоцитов в очаг воспаления, участии в иммунном ответе, тем самым играет важную роль в развитии воспалительного процесса. Способность лимфоцитов контактировать с тромбоцитами регулируется цитокинами и индукторами агрегации кровяных пластинок [4,8]. Однако до сих пор исследования пластиночно-клеточных контактов при пиелонефритах не проведены.

Целью нашей работы явилось исследование функции лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и содержания некоторых цитокинов, а также оценка лейкоцитарных индексов интоксикации у детей, страдающих острым пиелонефритом.

Материалы и методы. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964)).

Клиническую группу составили 36 детей с острым пиелонефритом (ПН) обоего пола в возрасте от 4 до 16 лет, 29 девочек и 7 мальчиков. Диагноз был выставлен на основании стандартных клинических и лабораторных критериев. У всех больных отмечались нормальные показатели почечных функций. Учитывая, что в современных условиях на данном этапе не были выявлено причины, способствующие развитию заболевания, ПН был отнесён к первичному. Все больные находились на стандартной терапии. Средние сроки лечения в стационаре составили 16 - 18 дней. Проводили забор венозной крови при поступлении в стационар, то есть в первые дни развития патологического процесса, а также к моменту выписки, когда купировались клинические проявления и отмечалась нормализация лабораторных показателей. Контрольную группу составили 30 здоровых детей соответствующего возраста и пола, у 15 из которых определена лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия.

Определение уровня ЛТА проводилось по методу, предложенному Ю.А. Витковским и соавт. [2]. Свежую, гепаринизированную кровь обследуемых больных наслаивали на градиент урографин-фикол (плотность 1,077) и выделяли лимфоциты методом центрифугирования со скоростью 1500 об/мин. Собирали интерфазное кольцо, содержащие клетки и кровяные пластинки, однократно промывали фосфатно-солевым буфером (pH 7,4) и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 3-4 мин. Надосадочную жидкость удаляли, осадок микроскопировали в камере Горяева. Подсчитывали число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов на 100 клеток (показатель ЛТА). У всех детей рассчитывался лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по формуле, предложенной Т.П. Бондарь [1].

При определении концентрации цитокинов в сыворотке крови (ИЛ-4, ИЛ-8, ИФγ) использовались наборы реагентов ЗАО "Вектор-Бест" (г. Новосибирск). Измерение уровня цитокинов проводили методом твердофазного ИФА.

Статистическая обработка проведена пакетом Microsoft Excel с использованием критерия Стьюдента (Т) и вычислен показатель достоверности Р.

Результаты и обсуждение. Установлено, что у пациентов, страдающих ПН, увеличивается ЛИИ - 2,74 ± 0,43 усл.ед, что значительно превышает показатели здоровых детей - 0,7±0,05 усл.-ед. ($p<0,005$) и свидетельствует о течении воспалительного процесса в организме, а также отражает средне-тяжелую степень эндотоксикоза. К 17-18 дню показатель восстанавливается до 0,66±0,08 (усл.ед.) ($p<0,001$).

В физиологических условиях лимфоциты здоровых детей способны образовывать агрегаты

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Таблица 1.

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у детей, больных пиелонефритом (M±m)

Показатель	Контрольная группа (n= 15)	Больные пиелонефритом (n=36)	
		в начале лечения	в конце лечения
Лейкоциты х 10^9	5,8±0,3	11,9±1,3	6,15±0,5
Лимфоциты (%)	46,9±2,9	27,5±5,7*	47,36±3,9
Лимфоциты (абс.) х 10^9	2,7±0,2	3,2±0,2	2,9±0,2
ЛТА %	14±0,9	19,75±0,9	15,6±0,7
Лимфоциты, участвующие в адгезии (абс.) х 10^9	0,38±0,03	0,61±0,05*	0,43±0,04
ЛИИ (усл.ед.)	0,7±0,05	2,74±0,43*	0,66±0,08

*- достоверность различий по отношению к контрольной группе (P<0,001).

с тромбоцитами. Их содержание в норме соответствует 14±0,9% от общего пула лимфоцитов (табл. 1). У большинства исследуемых пациентов отмечалось повышение уровня ЛТА в начале заболевания до 19,75±0,87 (p<0,001). В то же время у больных детей резко поднималось содержание лейкоцитов и абсолютное количество лимфоцитов. При этом абсолютное число ЛТА у больных детей оказалось увеличенным почти в два раза и составило 0,61±0,05 (табл.1).

На момент выписки происходило изменение функциональной активности иммунокомпетентных клеток и процент лимфоцитов, адгезировавших тромбоциты, снижался до 14,9±0,59% (p<0,001), существенно не отличаясь от аналогичного показателя здоровых лиц (p<0,05). Абсолютное содержание ЛТА также приближалось к нормальному (0,43±0,04x10^9/л).

Известно, что изменения лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при самых различных патологических состояниях, как правило, протекают в 2 фазы. Увеличение числа ЛТА свидетельствует о напряжении клеточного иммунитета, их уменьшение - о его угнетении или истощении. Более того, чем тяжелее протекает заболевание, тем меньшее число лимфоцитов способно присоединять к себе тромбоциты [6]. Наши данные указывают на то, что у детей с острыми бактериально-воспалительными заболеваниями почек развивается первая фаза этого процесса.

Обнаружено, что у больных детей исходный уровень ИЛ-8 в начале заболевания составил 86,4±8,86 пкг/мл против 30 пкг/мл (p<0,001), а

Таблица 2.

Содержание цитокинов у детей, больных пиелонефритом (M±m)

Показатели	Контрольная группа (n = 30)	Больные пиелонефритом (n=36)	
		в начале лечения	в конце лечения
ИЛ-4	34,3±2,8	49,11±4,7*	60,8±5,7*
ИЛ-8	8±0,5	86,4±8,9*	40,6±4,7*
IF-γ	22,7±2,0	63,8±6,21*	40,6±4,7*

*- достоверность различий по отношению к контрольной группе (P<0,001).

концентрация ИЛ-4 существенно не отличалось от нормального показателя и составила 49,11±4,67 пкг/мл в отличие от нормального 34,3±2,8 пкг/мл (p>0,005) (табл. 2). В процессе лечения концентрация ИЛ-8 снижалась до 40,6±4,77 пкг/мл, а ИЛ-4 - повышалась до 60,8±5,7 пкг/мл по сравнению с исходными значениями в начале болезни (p<0,001). Содержание ИФ-γ к началу госпитализации поднималось до 63,8±6,21 пкг/мл, и оставалось на высоком уровне в процессе лечения - 57,13±6,04 пкг/мл (p<0,05).

Итак, обнаружено, что у пациентов, страдающих острым пиелонефритом, исходный уровень провоспалительных цитокинов оказался умеренно повышенным, чем в контроле (табл. 2), причём ИЛ-8 заметно снижался к концу госпитализации, а содержание ИЛ-4, напротив, нарастало с течением патологического процесса, по сравнению со здоровыми лицами.

В развитии патологического процесса роль ЛТА неоднозначна: тромбоциты с одной стороны способны прилипать к субэндотелию, а с другой - к лимфоцитам [12, 13]. Благодаря этим взаимодействиям усиливается миграция лимфоцитов в очаг воспаления [6]. Более того, активированные тромбоциты высвобождают соединения, усиливающие гемостаз, а также ростковые факторы, участвующие в трофике и репарации тканей.

Известно, что затухание воспалительных реакций связано с повышением содержания противовоспалительных цитокинов, которыми являются ИЛ-4 и ИЛ-10 [11]. Повышение их уровня сопровождается уменьшением лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и, следовательно, миграции иммуноцитов в очаг повреждения [2, 3, 8, 9]. В свою очередь ИЛ-4 и ИЛ-10 тормозят функции Т-хелперов 1-го клона, являющихся продуцентами ИЛ-2. Их действие позволяет регулировать, а в финале и разорвать миграционный поток лимфоцитов в очаг воспаления.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Выводы:

1. У детей с пиелонефритами увеличивается способность лимфоцитов к образованию контактов с кровяными пластинками, что свидетельствует о серьёзных сдвигах в иммунитете.
2. В начале заболевания умеренно повышается концентрация ИЛ-8, ИФН-γ, ИЛ-4, в периоде стихания снижается содержание провоспалительных и поднимается уровень противовоспалительных цитокинов.
3. ЛИИ у исследуемых пациентов в 4 раза превышает показатели здоровых детей, что отражает остроту воспаления в организме и свидетельствует о наличии эндогенной интоксикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь Т.П. Лабораторно-клиническая диагностика сахарного диабета и его осложнений. Т.П. Бондарь, Г.И Козинец. - М.: Медицинское информационное агентство, 2003.- с. 88.
2. Витковский Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии/ Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов// Медицинская иммунология. - 2006. - Т. 8, № 5 - 6.- С. 745 - 753.
3. Витковский Ю.А. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования/ Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов// Иммунология.-1999.- № 4.- С.- 35-37.
4. Витковский Ю.А. Влияние цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию/ Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов// Медицинская иммунология. - 2002.-Т.4, № 2.- С. 135-136.
5. Витковский Ю.А. Влияние интерлейкинов 1 , 2, 10 и 16 на взаимодействие лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов с экстрацеллюлярным матриксом/ Ю.А. Витковский, А.В. Солпов, Б.З. Шенкман, Кузник// Иммунология. - 2006. - № 3. - С. 141-143.
6. Кузник Б.И. Адгезивные молекулы и лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия/ Б.И. Кузник, Ю.А. Витковский, А.В. Солпов// Вестник гематологии. - 2006. - Т. II, - № 2. - С. 42 - 55.
7. Макарова Т.П. Роль нарушений иммунного статуса в развитии вариантов нефропатий у детей/ Т.П. Макарова, Е.В. Агафонова, В.С. Валиев// Нефрология и диализ.- 2000.- Т.2, №4.- С. 99 - 103.
8. Солопов А.В. Влияние про- и противовоспалительных цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию/ А.В. Солпов// Забайкальский медицинский вестник - 2002.- №1.- С. 14-17.
9. Солопов А.В. Влияние цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию/ А.В. Солпов// Тромбоз, гемостаз, реология. -2002.- № 1.-С. 34-36.
10. Чеботарёва В.Д. Циркулирующие иммунные комплексы и показатели клеточного и гуморального иммунитета при пиело- и гломерулонефрите у детей/ В.Д.Чеботарёва, И.В. Багдасарова// Педиатрия. - 2006. - №6. - С. 11 - 13.
11. Черешнов В.А./ Иммунология воспаления: роль цитокинов В.А. Черешнов, Е.Ю. Гусев// Мед. иммунология. - 2001. - Т.3, №4.- С.361 - 368.
12. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: Role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors/ Solpov A., Shenkman B., Vitkovsky Yu. Et ol.// Thrombosis and Haemostasis. - 2006. - vol. 95. - P. 815-821.
13. Solopov A. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix: role of CD40 ligand and P-selectin glycoprotein ligand/ A. Solpov, B. Shenkman, Yu. Vitkovsky, B. Kuznik// Тромбоз, гемостаз и реология. - 2004. - № 4. - С.25 - 27.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.